

SÉRIE A, N° 77

N° D'ORDRE : 94

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

PAR

M.-AL. NITESCU

1^{re} THÈSE. — Contribution à l'étude de levures roumaines.

2^e THÈSE. — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 24 décembre 1915

Jury d'examen } MM. BOUTY, *Président*
G. BERTRAND, } *Examineurs*
A. FERNBACH, }

PARIS

JOUBE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, VI^e

1915

THÈSE
POUR
LE DOCTORAT



SÉRIE A, N° 77

N° D'ORDRE : 94

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

PAR

M.-AL. NITESCU

1^{re} THÈSE. — Contribution à l'étude de levures roumaines.

2^e THÈSE. — Propositions données par la Faculté.



Soutenues le 24 décembre 1915

Jury d'examen } MM. BOUTY, *Président*
G. BERTRAND, { *Examinateurs*
A. FERNBACH, }

PARIS

JOUBE & C^{ie}, ÉDITEURS •

15, RUE RACINE, VI^e

1915

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DES SCIENCES

MM.

DOYEN P. APPELL, *Professeur*. Mécan. analyt. et Mécan. céleste.
DOYEN HONORAIRE G. DARBOUX, *Professeur*. Géométrie supérieure.

PROFESSEURS } Ch. WOLF.
HONORAIRES } J. RIBAN.

	LIPPMANN . . .	Physique.
	BOUTY	Physique.
	BOUSSINESQ .	Phys. mathém. et Calcul des probabilités.
	PICARD	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.
	Y. DELAGE . .	Zoologie, anatomie, physiol. comparées.
	Gaston BONNIER	Botanique.
	DASTRE	Physiologie.
	KœNIGS	Mécanique physique et expérimentale.
	VELAIN	Géographie physique.
	GOURSAT . . .	Calcul différentiel et Calcul intégral.
	HALLER	Chimie organique.
	JOANNIS	Chimie (Enseignement P. C. N.).
	JANET	Physique. —
	WALLERANT . .	Minéralogie.
	ANDOYER . . .	Astronomie.
	PAINLEVÉ . . .	Mécanique rationnelle.
PROFESSEURS.	HAUG	Géologie.
	HOUSSAY . . .	Zoologie.
	H. LE CHATELIER	Chimie.
	Gab. BERTRAND	Chimie biologique.
	M ^{me} P. CURIE . .	Physique générale.
	CAULLERY . . .	Zoologie (Evolution des êtres organisés)
	C. CHABRIÉ . .	Chimie appliquée.
	G. URBAIN . . .	Chimie.
	Emile BOREL . .	Théorie des fonctions.
	MARCHIS	Aviation.
	Jean PERRIN . .	Chimie physique.
	G. PRUVOT . . .	Zoologie, anatomie, physiologie comparée.
	MATRUCHOT . .	Botanique.
	ABRAHAM	Physique.
	CARTAN	Calcul différentiel et Calcul intégral.
	Cl. GUICHARD .	Mathématiques générales.
	MOLLIARD . . .	Physiologie végétale.
	N.	Application de l'Analyse à la Géométrie.
	N.	Histologie.
	PUISEUX	Mécanique et astronomie
	LEDUC	Physique.
	MICHEL	Minéralogie.
	HÉROUARD . . .	Zoologie.
PROFESSEURS	L. BERTRAND . .	Géologie.
ADJOINTS.	R. PERRIER . . .	Zoologie (Enseignement P. C. N.).
	COTTON	Physique.
	LESPIEAU	Chimie.
	GENTIL	Pétrographie.
	SAGNAC	Physique (Enseignement P. C. N.).
	PEREZ	Zoologie (Evolution des êtres organisés).
SECRÉTAIRE.	D. TOMBECK.	

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR E. BOUTY

A MES JUGES MESSIEURS LES PROFESSEURS

G. BERTRAND ET A. FERNBACH

Avec l'expression de ma profonde gratitude et de mes remerciements pour leur bienveillant accueil.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Contribution à l'étude des levures roumaines

INTRODUCTION

Les Vignobles en Roumanie

Situation géographique.

La Roumanie, située entre les Carpathes et le Danube, a une différence de température allant jusqu'à 70°16 entre l'hiver et l'été. En hiver, le thermomètre descend quelquefois jusqu'à 30 degrés et, en été, il monte certains jours jusqu'à 40 degrés, formant ainsi ce qu'on appelle un climat exclusivement continental, mais qu'« s'accorde toutefois très bien avec « la culture en grand des blés, du maïs et des vignobles, « ce qui fait de la Roumanie un pays agricole et vinicole « par excellence » (Hepites).

Histoire.

Il est bien difficile de dire, d'une manière certaine ; depuis combien de temps il y a des vignobles en Roumanie ; l'histoire en cite, en tous cas, depuis qu'elle

parle des peuples *Scythes* et de *Dacia*. Jusqu'en 1884, date à laquelle le fléau phylloxérique a été signalé dans le pays, les cépages cultivés étaient presque tous des cépages autochtones ; mais après, dans la fièvre des replantations, nos vignerons ont cru trouver un refuge dans les cépages étrangers ; et c'est ainsi que nos vignobles présentent actuellement une collection de tous les cépages.

Importance économique.

La surface cultivée actuellement en vignes dépasse légèrement 72.000 hectares, avec une production d'environ 1.500.000 hectolitres.

Comparée à la valeur des vignobles des autres pays, celle des vignes de la Roumanie paraît bien insignifiante. Toutefois, si on compare cette production particulière à la production totale de la Roumanie, on voit qu'elle en constitue les 3,5 o/o et qu'elle vient immédiatement après le blé, le maïs, l'orge et l'avoine ; mais si on prend, en outre, en considération la qualité des vins que nous donnent les cépages indigènes, nous pouvons dire qu'ils sont un véritable trésor caché.

Pour donner une idée de la qualité de nos cépages, que beaucoup de vignerons renient malheureusement à l'heure qu'il est, il me suffira de citer quelques appréciations faites par des historiens et des voyageurs qui ont passé par la Roumanie.

« De nombreux vignobles fournissent d'excellents
« vins qui n'attendent qu'une exploitation intelligente

« pour rivaliser avec les vins de France. Point de terrains stériles, point de landes » (Ubicini, 1856).

Sur le vin de *Cotnari* : « Ils peuvent figurer parmi les meilleurs vins du globe, et quelques voyageurs le préfèrent même au Tokay » (Jullien, 1832).

Et voici maintenant l'opinion du prince Demetro Cantemir, le premier parmi les historiens qui se soit occupé de la Moldavie en 1716 :

« J'ose le considérer comme meilleur que tout le vin d'Europe, meilleur même que le vin de Tokay, car plus il est vieux, plus il devient fort, et il peut brûler comme la vraie eau-de-vie » ; et plus loin : « Le plus fort buveur peut à peine supporter trois verres sans s'enivrer ; mais il ne produit jamais de mal de tête ».

Et j'en pourrais citer bien d'autres, mais j'ai voulu uniquement prouver que nos cépages valent bien la peine qu'on s'en occupe.

La science chimique œnologique est presque inconnue chez nous dans la préparation de nos vins.

Convaincu que dans toutes choses, il faut commencer par le commencement, le Ministère de l'Agriculture, désirant améliorer la préparation de nos vins, a eu l'excellente idée de faire le sélectionnement de quelques levures trouvées sur les principaux cépages indigènes. J'ai eu le bonheur d'être chargé par le Ministère de l'exécution de ce sélectionnement ; c'est donc un essai de sélectionnement des principales variétés trouvées sur les cépages roumains que j'ai l'honneur de vous présenter. Si j'ai pris le résultat de mes expériences pour sujet de thèse, c'est que j'ai voulu, en dotant nos

vignerons de levures roumaines sélectionnées, apporter à ce travail d'utilité pratique un peu d'assurance scientifique.

Mais, même dans ces recherches modestes, je sais bien que que je ne suis pas arrivé à des résultats tout à fait concluants et que je devrai poursuivre la voie que j'ai ouverte.

I. — HISTOIRE DE LA SÉLECTION SA VALEUR ET SON IMPORTANCE AU POINT DE VUE PRATIQUE

A. — *Histoire.*

Les premiers essais tentés en vue d'obtenir des levures à l'état de pureté semblent remonter à une époque antérieure à Pasteur; car Alfred Jorgensen semble faire allusion à ce sujet en disant: « On sema
« de la levure de bière sur une tranche de pain
« humide, puis on couvrit soigneusement la culture d'une
« cloche en verre, en prenant toutes les précautions
« possibles pour garantir la végétation de tout corps
« étranger. Au bout de quelques jours, il se forma,
« comme cela a toujours lieu sur du pain humide, une
« couche de moisissure et l'on en conclut que la levure
« de bière était le point de départ des formes de moi-
« sissures et que, par conséquent, la levure et les moi-
« sissures ne représentaient que différentes étapes dans
« le développement d'une seule et même espèce ».

Mais il faut remonter presque jusqu'à l'année 1821, où EHRENBELG a eu l'idée de produire une culture séparée (sinon pure) pour l'étude morphologique de *Oidium*

fructigenum (Schmid) et de *Rhizopus nigricans* (Ehrenberg).

Au moyen de ces cultures, il a pu observer la germination des spores de ces champignons.

La levure a été examinée au microscope pour la première fois en 1680, par LEEUWENHOEK, qui l'a appelée *Fermenta cerevisæ*, et, en 1825, par Desmazières, qui l'a dénommée *Mycoderma cerevisæ*. Mais, des essais de culture pure, c'est-à-dire l'isolement de quelques cellules de levure, dont on pouvait suivre au microscope le développement, ce sont Mitscherlich, en 1834, Kützing, en 1851, et Schulze (Frantz) en 1860, qui les ont réalisés pour la première fois, alors que Berzélius et surtout Liebig niaient la nature végétale de la levure décrite et soutenue déjà par Cagnard Latour, en 1836, Schwann (Th.), en 1837 et Kützing (Fried), en 1837. Mais on ne peut parler de cultures absolument pures qu'à partir du moment où on a commencé à s'occuper de la physiologie de la levure et c'est avec l'intention d'étudier la vie physiologique de la levure que Pasteur a commencé l'étude des fermentations. Et, en 1876, il inaugure, en effet, un premier système de sélection des levures par cultures successives ou mieux appelé sélection physiologique (1), c'est-à-dire un sélec-

1. L'idée du système de sélection de Pasteur, il faut la voir dans son *Mémoire sur la Fermentation appelée lactique*, lu à l'Académie des Sciences en 1857, et après dans le *Mémoire sur les corpuscules organisés qui existent dans l'atmosphère, examen de la doctrine des générations spontanées* (au chapitre : « Sur le mode de nutrition des ferments proprement dits, des mucédinées et des vibrioniens ») publié vers l'année 1860.

tionnement par concurrence vitale (la prépondérance du plus fort (Darwin). Ce dernier système a été employé en 1877 pour les cultures pures des bactéries par Cohn F.

Mais cette méthode est inexacte, car « on était toujours obligé de prendre comme point de départ des éléments inconnus c'est-à-dire le mélange impur » [Joergensen, page 34]. Hansen, contrôlant la méthode de Pasteur, trouve que si on arrive quelquefois à éliminer des bactéries, souvent les levures sauvages qui se trouvent toujours en compagnie de bonnes levures se développent avec tant de vigueur qu'elles étouffent parfois la bonne levure qu'on voudrait isoler et purifier. Si on voulait employer cette méthode à produire des levures sélectionnées pour l'industrie, on pourrait voir sans étonnement une espèce toute différente de celle qu'on voulait produire.

Vers l'année 1865, le laboratoire de Carlesberg vient d'être créé par I. C. Jacobsen qui, d'après le fondateur, devait s'occuper en grande partie de l'étude des fermentations et de la production des bonnes levures pour la bière.

C'est ici que HANSEN, en 1881, employa une autre méthode par dilutions successives, ou mieux appelée *sélectionnement mécanique*, que déjà Pasteur avait imaginée (1).

1. « Une petite portion de levure est desséchée et réduite en fine poussière avec du plâtre. On laisse tomber d'une grande hauteur un nuage de cette poussière et, pendant la chute des particules, on ouvre plusieurs ballons dans lesquels on avait proba-

La nouvelle méthode employée par Hansen, c'est la méthode de Lister (1876), employée par l'auteur pour la production des cellules pures des bactéries de l'acide lactique. Elle consistait à diluer dans un liquide nutritif une quantité connue de cellules de ferments, laquelle, répartie dans plusieurs ballons, laissait supposer que chaque ballon, qui se peuplait, avait reçu une seule cellule ; mais la chose était seulement probable, car elle ne reposait sur aucune certitude scientifique. On ne savait jamais, en effet, quel ballon avait reçu une cellule et lequel en avait reçu deux, aucun signe extérieur ne le révélant.

Hansen apporte l'amélioration suivante. Il faut secouer vivement le ballon de dilution et le laisser ensuite se reposer tranquillement. A cause de cette agitation, les cellules isolées descendent au fond et restent collées aux parois du ballon. De là, il résultait que, si un ballon contenait une, quatre ou dix cellules par exemple, après que le liquide eut été secoué, sur le fond du ballon on devait voir une, quatre ou dix taches blanches. Si on ne trouvait qu'une seule tache, on pouvait avoir presque la certitude que le ballon avait reçu une seule cellule. Dans l'intervalle, Schroedter (1872) préconise des substances solides comme milieux nutritifs pour l'étude des bactéries, et plus tard Koch, remplace les tranches de pommes de terre de Schroedter par la gélatine nutritive dans laquelle il faisait des cultures en stries.

blement fait le vide. Il pourra de la sorte arriver que des cellules de levure, disséminées dans le nuage, pénétrant isolément dans quelques-uns de ces ballons » (Pasteur).

En 1883, Koch perfectionne la méthode en faisant des cultures sur des plaques. Cette méthode de culture sur plaque consiste à faire d'abord une dilution dans un liquide, à prendre de ce liquide une goutte et à la mélanger avec de la gélatine nutritive. Quand la gélatine se solidifiera, elle fixera les cellules et chaque cellule produira une tache blanche fixe. Cette tache pourra être enlevée très facilement et être ensemencée dans un milieu liquide.

En 1883, Hansen soumit la méthode de Koch au contrôle en mélangeant les *Saccharomyces apiculatus* et *cerevisæ*, et il observa que souvent une tache qu'on aurait cru provenir d'une seule cellule en contenait deux.

Alors, en 1886, il apporta à la méthode de Koch une petite modification : une couche de gélatine nutritive qui contenait de la levure comme dans la méthode de Koch est étalée sur une lamelle qui couvre une chambre humide. De cette manière, on peut observer au microscope où se trouve le germe isolé et s'il y a une seule cellule ou deux.

Déjà cette méthode mécanique avait une supériorité sur la méthode physiologique de Pasteur, car le point de départ était sûr ; mais on n'était pas tout à fait certain qu'une colonie soit exclusivement issue d'une seule cellule, car voilà ce qu'en dit Jorgensen en 1899. « D'après les expériences de Holm, faites en 1891, dans vingt séries d'essais effectués d'après le procédé de Hansen, avec des mélanges distincts fut que, dans un seul cas, cent colonies avaient été formées par cent cel-

lules, dans toutes les autres séries on trouve des erreurs. » Plus loin : « Par là, il est démontré que le procédé sur plaques est également défectueux pour la levure, » Et : « En répétant, même plusieurs fois, les cultures sur plaques, on ne sait cependant jamais si le but est réellement atteint ou non. »

Pour donner plus de précision et d'assurance à la méthode de Hansen, Lindner imagina, en 1883, les cultures en gouttes pendantes qui partent d'une colonie faite sur gélatine et qui peuvent être suivies au microscope pour s'assurer que chaque goutte contient une seule cellule et que cette cellule est plus ou moins du type et de la forme que nous voulons séparer.

En 1895, Schœnfeld (Fr.) apporte à la méthode de Lindner une modification qui consiste à remplacer les gouttes par des stries de gélatine nutritive.

Dans l'étude technique du sélectionnement, nous avons donc trois étapes : Pasteur (1876), Hansen (1886) et Lindner (1893).

B. — *La valeur du sélectionnement des levures au point de vue pratique*

Ici, comme dans l'histoire technique, il faut commencer par Pasteur.

En 1867 et en 1876, Pasteur dit de l'influence de la levure sur les milieux fermentescibles :

« J'ai cultivé cette levure (1) sur une assez grande

1. Il parle d'une levure de vin qu'il avait sélectionnée par la méthode physiologique.

« échelle dans le moût de bière. Elle a fourni une bière
« particulière, vineuse, un véritable vin d'orge. C'est
« une preuve, pour le dire en passant, que le vin ordi-
« naire, son goût, ses qualités dépendent certainement,
« pour une grande part, de la nature spécifique des
« levures qui se développent pendant la fermentation
« de la vendange.

« On doit penser que si l'on soumettait un même
« moût de raisin à l'action de levures distinctes, on en
« retirerait des vins de diverses natures.

« Au point de vue des applications pratiques, des
« études nouvelles devraient être entreprises dans cette
« direction » (p. 224).

« Ces levures donnent souvent aussi à la bière un
« goût *sui generis*, un goût de levure qui ne disparaît
« pas, même après un long séjour en fûts.

« La répétition de cultures de ces levures, en vases
« ouverts, quelle que soit la quantité d'air qu'on fasse
« intervenir avant la fermentation ne paraît pas les
« modifier (p. 378).

Ces conclusions ont été tirées des résultats qu'il a obtenus en ajoutant des levures de Champagne à du moût d'orge. Mais, jusqu'en 1881, quand commencent les premières études de sélectionnement de Hansen, la chose était bien embrouillée, car on ne pouvait isoler une espèce quelconque et on ne pouvait non plus avancer quelque chose sur ses propriétés physiologiques.

Une fois cette route ouverte, nous voyons en 1887, Duclaux qui publie dans *les Annales de l'Institut Pasteur*, des observations faites sur le bouquet des levures

de Champagne, qui étaient supérieures aux autres levures.

Après, en 1884, ROMMIER présente à l'Académie des Sciences une note sur les levures ; en 1888, Berthelot présente également à l'Académie une note de G. JACQUEMIN sur le bouquet produit par les levures sélectionnées.

Encore en 1888, LOUIS MARX publie plusieurs articles sur l'emploi de levures sélectionnées et sur la stérilisation du moût.

En 1889, ROMMIER communique à l'Académie une note sur la possibilité de communiquer le bouquet d'un vin de qualité à un vin commun. Après, en 1890, MARTINAND et RIETSCH font des expériences avec des levures sélectionnées et ils mettent en vente pour les vignerons de la levure sélectionnée.

A partir de 1890, nous voyons M. KAYSER commencer à isoler plusieurs races de levures du midi de la France faire des applications pratiques et continuer à publier les résultats sur cette question jusqu'à ces derniers temps.

En 1892-1894, M. J. WORTMANN établit que les différentes races de levures donnent sur le même milieu une différence d'extrait sec et de glycérine.

En 1899, M. A. ROSENTHIEL fait en grand, sur des quantités qui vont jusqu'à 150.000 kilos de raisin, des expériences de vinification en employant des levures sélectionnées sur le moût stérilisé par la chaleur.

Les vins produits ont été soignés comme d'ordinaire, mis en bouteille et dégustés par une commission composée de plusieurs négociants.

Sur les vins immédiatement fermentés, la commission s'est exprimée ainsi : « On rencontre dans ces vins nettement plus de fraîcheur, plus de vinosité, un bouquet plus développé, une couleur plus franche ; l'ensemble donne un tout plus complet et plus plaisant. »

De plus, M. A. ROSENTHIEL avait traité par le même procédé stérilisation et levurage avec de la levure sélectionnée de la vendange absolument pourrie et tout à fait altérée par les moisissures, qui n'auraient pu servir en rien.

Sur ces vins dégustés également par la Commission, voici l'opinion formulée : « Les vins n'ont en aucune façon le goût de pourri et, sans posséder les grandes qualités des crus dont provenaient les levures employées, ils ont un bon bouquet, de la finesse et même une certaine élégance. Il y a là un moyeu très heureux de tirer parti des raisins altérés par les moisissures. »

Quant à l'action des différentes levures employées sur le même moût, on a reconnu que les différentes levures ont développé le même bouquet, mais à des degrés d'intensité différente. Donc une chose vient d'être acquise, à savoir que la *nature* des bouquets dépend du cépage (fait aussi observé par M. Roos en 1892), et que *l'intensité* dépend de la levure.

C'est cette observation qui a poussé M. Rosenthal à admettre l'hypothèse de l'existence d'une substance non encore isolée. Cette substance, il l'appelle *anthophore*, et elle existerait seulement dans les cépages nobles (observation faite aussi par M. Ventre). Cette substance se trouve dans la même variété à des degrés différents

suivant le degré de maturité, la position et le climat. De plus, elle peut résister en partie à l'action des moisissures.

Alors, sur cette substance *anthophore*, la levure de choix doit agir par une autre substance qu'elle contient et qui lui est spéciale, qu'on appelle *anthogène*. Celle-ci, avec la substance *antophore*, produit le bouquet, corps très mal défini, qui n'est pas en rapport direct avec la quantité des éthers et des acides volatils (Gayon) et je pourrais peut-être dire que : *le bouquet est formé de corps sapides et odorants en quantités infinitésimales avec une vibration de grande longueur d'ondes lors de leur dissolution et de leur solubilisation*.

Grâce à Hansen, qui a mis au point le sélectionnement de la levure, l'utilité de l'emploi des levures sélectionnées dans la fermentation vinicole est donc devenue indiscutable. Car il me semble qu'il ne faut plus en parler à la brasserie où l'emploi de levures sélectionnées est aujourd'hui une opération courante.

II. — PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS ET TECHNIQUE DE L'ISOLEMENT

A. — *Prélèvement.*

Pendant le mois de septembre et au commencement d'octobre de 1914, je me suis rendu dans les régions où les cépages sont autochtones, cépages dont je voulais purifier et sélectionner les levures. Là, soit par des renseignements pris auprès des vignerons de la localité, soit en suivant les caractères ampélographiques décrits sur la variété autochtone, j'ai cherché les plants qui représentaient mieux ces caractères. Je m'efforçai aussi de recueillir les raisins aussi sains que possible et provenant des meilleures expositions. De cette manière, je prélevai des localités : DRAGASCHANI (dép. Valcea), ISTRITZA, PIETROASA (dép. Buzau), ODOBESTI (dép. Putna) et COTNARI (dép. Jassy), une quantité d'environ 50 kilos de raisins que j'apportai au laboratoire où, grain par grain, ils ont été séparés de la grappe avec toutes les précautions nécessaires ; puis, pressés ensuite avec une petite presse, le jus a été mis dans des bonbonnes placées dans une étuve à une température de 25 degrés où on l'a laissé fermenter.

La fermentation finie, les bonbonnes ont été abandon -

nées plusieurs semaines à l'action du froid. J'ai ainsi obtenu un liquide parfaitement limpide que j'ai décanté, mis en bouteilles et bouché. J'en ai mis une partie à la cave pour en faire la dégustation plus tard. Sur une autre, j'ai fait l'analyse.

Le dépôt qui restait sur le fond des bonbonnes, après en avoir éliminé la partie supérieure, a été mis avec un peu de son vin dans de petites bouteilles qui, bouchées et paraffinées, ont servi plus tard comme point de départ du sélectionnement et de la purification de la levure.

Les variétés de raisins que j'ai choisies parmi ces bouteilles pour faire le sélectionnement de leurs levures sont les suivantes :

1° *Grasa* (Cotnari, Jassy). — Cette variété de vin blanc paraît avoir pour origine le Furmint de Hongrie. D'une végétation très vigoureuse et luxuriante dans les terrains riches, elle est attaquée par le *Batrytis cinerea* (pourriture noble) et elle produit le meilleur vin.

Avant le phylloxera, et d'après M. Nicolau : « le vin de Cotnari est toujours coté, de 700 à 2000 francs l'hectolitre, selon la vieillesse. »

Comme force alcoolique, ce vin arrive par fermentation jusqu'à 16 degrés.

2° *Grasa* (Pietroasa, dép. Buzau). — C'est la même variété, mais d'une autre localité. Dans cette localité, bien qu'elle n'y soit pas d'origine, elle donne un vin supérieur aux autres ;

3° *Feteasca alba* (blanche) (Cotnari, dép. Jassy). — Originnaire aussi du nord de la Moldavie, dans la région de Cotnari, où elle se trouve en mélange avec *Grasa*.

Variété assez vigoureuse, grappes petites, grains sphériques, pellicule dure; couleur jaune doré. Le vin, moins alcoolique que celui de Grasa, à 11 et 13 degrés ;

4° *Françusea* (Cotnari, dép. de Jassy). — Avec Grasa, elle occupait avant le phylloxera tous les crus de la Moldavie du nord.

Variété de vin blanc et de grande production donnant un vin léger ;

5° *Tamuiosa* (Odobesti et Dragachani). — Variétés qui ressemblent au Muscat et qui doivent avoir comme origine, la Grèce. Dans l'ancien temps, elles étaient plutôt cultivées à Dragachani. Le vin parfumé, qui n'avait pas plus de 11 à 12 degrés, se vendait assez cher et était très recherché ;

6° *Cramposia* (Istritza, dép. Buzau). — Cette variété de vin blanc est plutôt originaire du cru de Dragachani. Elle est d'une production moyenne et donne un vin assez alcoolique ;

7° *Negru vartos* (Istritza). — Il se trouve plutôt en Olténie et c'est la variété principale pour le vin rouge. La grappe a les raisins et la peau dure ;

8° *Negru moale* (Istritza). — Variété de grande production pour le vin rouge, mais qui pourrit très facilement. Le vin inférieur à celui de *Negru vartos* ;

9° *Feteasca neagra* (Dép. Jassy). — La plus importante variété pour le vin rouge dans la Moldavie, mais très peu productive et tardive.

Voilà l'analyse des vins qu'ont donnée les raisins que j'avais récoltés et qui m'ont fourni le dépôt sur lequel j'ai commencé le sélectionnement des levures.

Tableau I

	Grasa Colnari	Grasa Pietroasa	Feteasca alba	Francusea	Galbena	Tamuiosa Odobesti	Cramposia	Negru moule	Negru varios
Densité.....	0,998	0,997	0,999	0,997	0,996	0,994	0,995	0,995	0,993
Alcool o/o....	11,5	14,68	11,6	8,2	10,7	10,3	10	9,5	11,5
Ext. sec (dens. gr.).....	25,34	31,96	20,68	22,22	23,37	22,76	18,76	19,08	19,34
Sucre (Feh- ling).....	3,24	8,32	1,05	1,32	...	...	...	...	...
Bitartr. de po- tasse.....	3,1	2,80	3,87	3,12	4,23	3,15	3,15	4,31	4,22
Ac. totale....	6,1	5,8	5,8	6,6	6,87	5,10	8,21	6,8	6,3
Ac. volat.....	0,82	0,85	0,98	0,91	0,93	0,87	0,78	0,81	0,74
Alcool + aci- dité.....	17,6	20,48	17,4	17,8	17,57	15,4	18,21	16,4	17,2

B. — *Technique de l'isolement.*

Pendant l'opération de l'isolement, les cultures ont été faites dans l'eau de touraillon.

Dans ce liquide, j'ai mis :

Saccharose (1).	150 gr.
Tartrate d'ammoniaque. . . .	1 gr. 50
Tartrate de potassium.	1 gr. 00
Acide tartrique.	5 gr. 00
Phosphate d'ammonium.	1 gr. 00
Carbonate de magnésie.	0 gr. 30

1. J'ai mis dans mon milieu 150 grammes de sucre parce qu'il me semblait qu'élevant la levure dans plusieurs cultures successives avec une petite dose de sucre de 20 à 30 grammes qu'on

Le tout une fois dissous et mélangé, a été distribué dans des tubes à essai et *stérilisé à 120 degrés*, vingt minutes.

Une fois en possession de ce milieu stérilisé, j'ai débouché les flacons qui contenaient le dépôt des levures et ayant jeté la partie supérieure qui était devenue d'une couleur brune, j'aiensemencé dans chaque tube une anse de platine de la partie blanche.

Les tubes ainsiensemencés ont été placés dans l'étuve à 25 degrés où la fermentation n'a pas tardé à se montrer. Avec le dépôt de ces tubes, dans lesquels le liquide tardait à devenir clair, j'ai fait un ensemencement pareil au premier, dans une autre série de tubes, lesquels ont été mis dans l'étuve également à 25 degrés.

Dans ces deuxièmes tubes, le liquide est devenu clair plus ou moins vite avec toutes les variétés. Je ferai remarquer que tous mes ensemencements ont été faits en plusieurs exemplaires, deux au minimum, pour avoir le plus d'assurance possible dans mes conclusions. C'est d'ici que va commencer maintenant le sélectionnement proprement dit. La méthode que j'ai employée est celle de Hansen modifiée par Lindner. Pour commencer, j'avais besoin d'abord d'un milieu nutritif solide et j'ai choisi l'eau de touraillon gélatinisée.

La quantité de gélatine a été de 15 o/o et les autres opérations ont été faites comme d'habitude.

emploi d'habitude pour les milieux artificiels, la levure ne pourrait pas développer toutes ses aptitudes et j'ai peur qu'après quinze ou vingt cultures dans les milieux si pauvres, la levure ne perde un peu de son pouvoir alcooligène.

III. — ÉTUDE MORPHOLOGIQUE

1^o Aspect du dépôt de levure.

La forme macroscopique du dépôt dans les fermentations de mes levures a eu l'aspect suivant :

Tamuiosa (Odobesti et Dragachani), *Feteasca alba*, *Negru moale*, *Negru vartos*, dépôt adhérent au fond du ballon.

Francusea, *Galbena*, *Feteasca neagra*, dépôt sablonneux collé le long des parois.

Cramposia, *Grasa* (Cotnari) et *Grasa* (Pietroasa) dépôt plutôt en grumeaux et collé le long des parois.

2^o Dimensions et forme des cellules.

La grandeur de la cellule était petite : diamètre 5 à 7 μ ; grand diamètre, 8 à 10 μ . La forme elliptique prédominait. J'ai remarqué que plus le milieu était acide, plus la forme de la cellule se rapprochait de la forme ovoïde. Mais cette cellule, ramenée dans un milieu normal, revenait à la forme elliptique. Sur la marche de la fermentation, j'ai observé que plus la cellule était petite, plus la fermentation était languissante

et plus le liquide tardait à s'éclaircir. Mais comme le temps m'a fait défaut pour continuer mes recherches au point de vue morphologique dans cette direction, j'ai dû résumer ici mes observations sur les formes et les dimensions de la cellule.

3° *Formation des spores.*

L'importance que peut avoir l'observation de la formation des spores sur la distinction des différentes levures, a été mise en évidence par E. Christian Hansen, dès l'année 1883.

Après avoir fait rajeunir les levures par plusieurs ensemencements successifs, j'ai pris le dépôt formé au fond du tube à essai ; je l'ai versé dans un milieu de Gorodkowa modifié :

Eau distillée.	100 grammes
Gélatine	10 grammes
Peptone	1 gramme
Bouillon de viande	1 gramme
Sulfate de magnésie	0 gr. 30
Chlorure de sodium	0 gr. 50
Glucose	0 gr. 20

Ce milieu préparé et stérilisé à 115 ne fond ultérieurement qu'à 28 degrés.

Les cultures ont été mises à l'étuve à 25 degrés et j'ai commencé à les regarder après huit jours. Les spores ont été caractérisés par la méthode de double coloration

modifiée. Une anse de platine de culture est diluée à l'aide du fil de platine dans une goutte d'acide sulfurique (1 pour 10) afin de détruire l'adhésion entre les cellules (Hansen).

Quand cette dilution a été suffisante, on sèche la lame et on fixe la préparation avec un mélange d'alcool-éther pendant deux à trois minutes, et on met quelques gouttes d'acide chromique à 5 o/o ; on le laisse agir pendant cinq minutes. On lave à l'eau et on verse de manière à couvrir complètement la préparation, une solution de fuschine phéniquée de Ziehl.

Après quelques minutes, dix à quinze, on lave à grande eau pour enlever l'excès de couleur. On décolore ensuite par l'acide sulfurique au quart, qu'on laisse agir pendant quelques secondes, puis vite on lave à grande eau, afin que la préparation qui est un peu jaunâtre devienne rosée. On la passe encore à l'alcool absolu et on lave après à l'eau. La lame est enfin recouverte d'une solution aqueuse de bleu de méthylène. Après quelques minutes de contact, on la lave à l'alcool, on la sèche ; on peut alors la porter au microscope et l'examiner à sec ou dans l'huile de cendres.

Toutes mes levures ont sporulé très bien. Quelques-unes ont commencé après cent trente heures, mais toutes après cent cinquante heures. Parmi les plus tardives ont été celles des variétés suivantes :

Francusea (Cotnari), *Feteasca* (Cotnari) et *Tamuioasa* (Dragachani).

La forme des spores a été : deux spores à côté l'un de l'autre, trois spores en file et quatre spores en file.

4° *Formation du voile.*

La formation ou non, ou la forme du voile peut servir comme caractères de distinction entre les différentes races de levure. Mais même dans la même race, le voile ne se forme pas toujours. J'ai pu observer que le voile ne se forme pas chez les variétés *de levures qui se déposent vite* et qui ont une *fermentation tranquille*. En général, je peux dire que les levures sélectionnées par moi exigent une température de 25 degrés, plusieurs mois pour former un voile.

5° *Cultures en stries*

Ces cultures ont été faites dans de l'eau de touraillon sucrée et gélatinisée, dans des tubes à essai inclinés. Sur la gélatine inclinée on traçait une ligne à l'aide du fil de platine et les tubes étaient tenus à la température de laboratoire. Pendant trois mois, on n'a observé aucune liquéfaction de la gélatine. Le développement des stries a été superficiel avec une proéminence centrale d'où partaient des stries latérales. Toutes mes levures ont produit le même genre de stries.

6° *Cultures en piqûres*

Ces expériences ont été faites pour voir la puissance anaérobie de la levure. Les cultures ont été faites dans

de l'eau de touraillon sucrée et gélatinisée à 15 o/o dans des tubes à essai où le fil de platine a été enfoncé jusqu'au fond.

Lors de cette opération, j'ai pris toutes les précautions pour que la fente produite par l'enfoncement du fil soit la plus petite possible. La manière la plus simple est de laisser enfoncer le tube, à raison de son poids, dans le fil de platine, et le bout de ce fil, une fois arrivé au fond du tube, on retourne le tube et on le laisse ressortir, toujours par son propre poids. En employant un fil de platine mince, on peut éviter la formation d'une fente trop large qui pourrait aérer les levures. Autant pour les cultures en stries que pour les cultures en piqures, je me suis servi de cultures jeunes de deux à trois jours. Toutes mes levures se sont développées jusqu'au fond du tube; le développement a été si puissant que la gélatine a été soulevée et par petits morceaux, est montée jusqu'au haut du tube. Toutes se sont comportées pareillement, et forment des colonies tout à fait blanches.

7^e Cultures en chambre humide

La forme de développement des colonies de différentes levures n'est pas pareille. Pour voir si je peux trouver quelques renseignements de ce côté là, je fais les cultures en chambre humide.

La levure a étéensemencée dans du moût gélatinisé et liquéfié à 30 degrés. Ensuite, avec un fil de platine recourbé, en angle droit, on étalait un peu de ce moût

gélatinisé sur une lamelle de 22 millimètres avec laquelle on couvrait une chambre de *Bættcher*, stérilisée, qui contenait un peu d'eau stérilisée et qui avait reçu sur les bords de la vaseline liquide. Ainsi préparées, les chambres étaient mises sur un support métallique. Ce support était placé dans une cuvette contenant un peu d'eau et couverte par une cloche en verre. Cet appareil est ensuite porté à l'étuve à 25 degrés. Chaque jour, on regarde au microscope la chambre de *Bættcher* et on observe comment les cellules se développent et quelles formes prennent les colonies. La forme des colonies n'est pas la même chez toutes les levures. Suivant la classification de Will, j'ai eu quelques-unes des levures formant des colonies type I, avec contours réguliers et presque toutes du type II, contours irréguliers, noyau régulier.

8° Colonies géantes

La méthode des cultures géantes, préconisée par Lindner en 1893, est aujourd'hui utilisée par tous les mycologues ou bactérologues pour différencier les levures ou les microbes. Cette méthode consiste à examiner l'aspect d'une colonieensemencée en un seul point au centre d'une surface de gélatine nutritive. Au bout de deux ou trois mois, le développement de la colonie formée est différent suivant les races de levure et même suivant les variétés. D'habitude ces cultures se font, soit dans de grands ballons, soit dans des fla-

cons de Erlenmeyer, de manière à avoir une grande surface et beaucoup d'air. Mais je n'ai trouvé assez pratique ni les ballons qui sont encombrants et dans lesquels la colonie est très difficile à photographier quand l'ouverture n'est pas assez large, ni les flacons d'Erlenmeyer. C'est pourquoi j'ai imaginé un nouveau dispositif qui, extérieurement, a l'aspect d'un flacon Gayon. Ce dispositif se compose de trois parties détachables ; deux cristallisoirs qui rentrent l'un dans l'autre, laissant comme distance entre les deux parois seulement un espace où peut entrer un entonnoir à bord rodé. L'entonnoir est couvert d'un capuchon comme les flacons Pasteur, Gayon, Chamberland, Hansen, etc (Fig. 1). La boîte, ou si l'on veut l'appeler le flacon, ainsi constituée est préalablement stérilisée à 160 degrés et reçoit dans le petit cristallisoir en levant l'entonnoir du moût gélatinisé à 15 o/o, également stérilisé. L'entonnoir couvre vite le cristallisoir et entre le bord du deuxième cristallisoir et la paroi externe de l'entonnoir, on fait couler de la paraffine. La gélatine solidifiée, on fait l'ensemencement à l'aide d'une pipette Pasteur en ôtant le capuchon. L'avantage de ce dispositif sur les autres ballons consiste en ceci : la colonie une fois développée, on peut enlever l'entonnoir ; on prend le cristallisoir qui contient la colonie et qui a la forme d'une partie d'une boîte de Pétri (Fig. 2). Il est facile de comprendre qu'on peut la regarder sans difficulté à l'œil ou à la loupe et qu'on peut aisément la photographier.

Mes colonies géantes ont eu presque toutes l'aspect des colonies obtenues par Lindner avec des levures de

fermentation basse. Elles ont eu une zone concentrique, quelques-unes avec proéminence, quelques autres avec excavation ; quelques-unes étaient superficielles, les autres assez profondes, comme on peut le voir dans les planches : (Fig. 3-12).

IV. — ÉTUDE PHYSIOLOGIQUE

1^o *Nature des sucres susceptibles d'être fermentés.*

Parmi les caractères qu'il est possible de prendre comme base pour séparer une levure d'une autre, la manière dont une levure se comporte vis-à-vis des différentes natures de sucre peut nous donner quelques indications, car Hansen et Guillermond se sont servis de ces caractères dans leur essai de classification des différentes levures.

Pour cette expérience, j'ai employé la méthode de Lindner, qui consiste à faire une culture en surface sur de la gélatine nutritive (1).

Quand la surface de la gélatine est devenue tout à fait blanche, on prend superficiellement avec le fil de platine de la levure qu'on dilue dans l'eau de touraillon (moins le sucre) stérilisé. Le sucre que j'ai employé, je l'ai purifié par plusieurs cristallisations et je l'ai fait dessécher. Dans les lames excavées, on met de l'eau de touraillon

1. Sur de la gélatine très peu sucrée et inclinée dans un tube à essai, on étale au moyen du fil de platine de la levure. En prenant une semence de ces levures développées en colonies, on peut supposer qu'elles ne contiennent pas de sucre qui pourrait fausser les résultats.

stérilisée (moins le sucre), une anse de platine, du sucre à expérimenter qui a été pulvérisé très fin, de manière que l'on puisse en prendre des quantités à peu près égales, et une anse de la levure préparée d'après les indications ci-dessus. Sur les trois bords de la concavité, on met de la vaseline liquide et on fait glisser par le côté qui n'a pas reçu de vaseline une lamelle de 22 millimètres. La lamelle doit être glissée de manière à ne pas produire de globules d'air. On met après tout, autour de la lamelle, de la vaseline liquide et on porte le tout à l'étuve de 25 degrés. Quand la fermentation se déclare, elle produit sous la lamelle une bulle gazeuse que l'on identifie au moyen de la potasse. Les sucres que j'ai employés sont : saccharose, glucose, lévulose, maltose, lactose et galactose, et le résultat a été le suivant : le numéro 3 indique fermentation très vite ; 2, moins vite, et 1, très peu.

Tableau II

	Saccharose	Glucose	Lévulose	Maltose	Lactose	Galactose
Grasa Cotnari.....	3	3	3	2	.	2
Grasa Pietroasa.....	3	3	3	2	.	2
Feteasca (Blanche).....	3	3	3	3	.	2
Francusea.....	3	3	3	3	.	2
Galbena (Odobesti).....	3	3	3	3	.	2
Tamuioasa (Odobesti)...	3	3	3	3	.	2
— (Dragachani)	3	3	3	3	.	2
Cramposia.....	3	3	3	3	.	3
Negru moale.....	3	3	3	3	.	2
Negru vartos.....	3	3	3	3	.	2
Feteasca (Rouge).....	3	3	3	3	.	2

Cette expérience montre que toutes mes levures déboublent le saccharose, font fermenter le glucose, le lévulose, le maltose et le galactose, mais sont sans influence sur la lactose.

2° Liquéfaction de la gélatine.

Des cultures faites en surface ou en piqure sont restées de trois mois, à trois mois et demi sans jamais liquéfier la gélatine. On peut considérer cette propriété comme caractérisant une bonne levure de vin.

*3° Influence de l'acidité
sur la marche de la fermentation.*

Dans un milieu contenant une quantité connue d'acidité totale, toutes les levures ne fermentent pas de la même façon.

L'indication qu'on peut avoir, ou la conclusion qu'on peut tirer de cette observation pourra paraître n'avoir aucune valeur au point de vue pratique. Mais elle peut servir au point de vue théorique à établir une comparaison entre les levures ; car, d'après mes observations, j'ai remarqué que les levures qui résistent le plus à l'acidité, c'est-à-dire pour lesquelles l'acidité gêne le moins le départ de la fermentation, sont à peu près celles qui produisent le plus d'alcool et qui se déposent le plus facilement. De cette observation, il me semble qu'on peut tirer quelques renseignements pratiques. Mes expériences ont été faites de la manière suivante : dans des tubes à essai, aussi pareils que

possible en forme et en capacité, j'ai introduit 10 centimètres cubes d'eau de touraillon sucrée, sans acide. Puis, au moyen de l'acide tartrique titrée, j'ai ramené l'acidité à 5'10, 15 et 25 grammes, par litre, exprimé en acide tartrique. Les tubesensemencés ont été portés à l'étuve de 25 degrés et regardés pour voir quand part la fermentation (observations consignés dans le tableau suivant) :

Tableau III

VARIÉTÉS DE LEVURES	Nombre d'heures nécessaires au départ des fermentations avec une acidité tartrique égale à :				
	5 gr.	10 gr.	15 gr.	20 gr.	25 gr.
Grasa Cotnari.....	24	24	24	36	48
Grasa Pietreosa.....	24	24	24	36	40
Fetcasca alba (Blanche)...	24	24	24	36	40
Francusea.....	24	24	24	36	48
Galbena (Odobesti).....	24	24	24	24	40
Tamuiosa (Odobesti).....	24	24	36	40	70
Tamuiosa (Dragachani)...	24	24	24	40	40
Cramposia.....	24	24	24	28	36
Negru moale.....	24	24	36	40	70
Negru vartos.....	24	24	36	40	70
Feteasca neagra (Rouge)...	24	24	36	40	70

D'après ce tableau, on peut voir que l'acide n'empêche pas beaucoup le départ de la fermentation, comme d'ailleurs M. Dubourg l'a dit : « Il y a des vins de palus contenant près de 40 grammes d'acidité par litre et ce moût fermente toujours d'une manière normale si les conditions sont favorables. La qualité du vin peut laisser à désirer, mais l'acidité ne paraît avoir aucune influence néfaste sur la fermentation. »

Pourtant, toutes les cultures ne présentent pas le même aspect après neuf jours d'ensemencement.

Avec 10 grammes d'acide tartrique par litre : *Feteasca alba*, *Galbena*, *Negru vartos* dégagent encore CO^2 .

Avec 20 grammes, *Neagru moale* et *Feteasca negra* seules dégagent CO^2 .

Avec 25 grammes, toutes dégagent très légèrement CO^2 , mais toutes sont très claires.

4° Influence de l'alcalinité sur la marche de la fermentation.

Pour l'expérience de l'influence de l'alcalinité, les cultures ont été préparées de la même manière que pour l'influence de l'acidité, mais ayant une alcalinité de 2 grammes de NaOH .

Le résultat de cette influence est consignée dans le tableau suivant :

Tableau IV

VARIÉTÉS DE LEVURES	Nombre d'heures nécessaires au départ de la fermentation avec une alcali- nité de 2 grammes exprimée en NaOH .
Grasa Cotnari.....	168
Grasa Pietreosa.....	100
Feteasca alba (Blanche).....	120
Francusea.....	144
Calbena (Odobesti).....	70
Tamnioasa (Odobesti).....	40
— (Dragachani).....	36
Cramposia.....	28
Negru moale.....	70
— vartos.....	70
Feteasca negru (Rouge).....	130

Les variétés qui ont mis le plus de temps pour commencer à fermenter sont :

Grasa (Cotnari), *Grasa* (Pietreosa), *Feteasca alba* et *Feteasca neagra*, variétés de vins fins et avec maturité tardive. L'aspect des cultures a été le suivant : toutes ont formé un peu de voile et *Grasa* (Cotnari) *Galbena*, *Negru moale* et *Feteasca neagra*, après neuf jours continuaient encore à fermenter.

5° Résistance de la levure à l'acide sulfureux.

Cette expérience a été faite dans un but tout à fait pratique, c'est-à-dire pour avoir une indication afin de savoir quelles sont les levures qui peuvent supporter un sulfitage plus considérable. L'essai a été fait en me mettant dans les conditions de vinification. Des tubes contenant de l'eau de touraillon préparée comme pour l'essai de l'acidité et de l'alcalinité, ont reçu une solution de métabisulfite dans l'alcool correspondant à 5, 10, 15, 25, 35 et 45 grammes de métabisulfite par hectolitre. L'influence que peuvent avoir les différentes quantités d'acide sulfureux sur le départ de la fermentation de mes diverses levures apparaît dans le tableau suivant :

Tableau V

VARIÉTÉS DES LEVURES	Nombre des heures nécessaires au départ des fermentations avec une addition de métabisulfite correspondant par Hl à :						
	5 gr.	10 gr.	15 gr.	20 gr.	25 gr.	35 gr.	45 gr.
Grasa Cotnari... ..	24	24	24	24	36	36	36
Grasa Pietrosa... ..	24	24	24	24	36	36	36
Feteasca alba (Blanche)	24	24	24	28	36	40	60
Francusea... ..	24	24	24	28	36	40	40
Galbena (Odobesti)... ..	24	24	24	24	24	40	40
Tamuiosa (Odobesti)... ..	24	24	24	24	24	40	40
Tamuiosa (Dragachani)... ..	24	24	24	24	24	40	40
Cramposia... ..	24	24	24	24	24	40	40
Negru moale... ..	24	24	24	28	36	40	40
Negru vartos... ..	24	24	24	28	36	40	40
Feteasca neagra (Rouge)	24	24	24	24	36	40	60

Les variétés sur lesquelles l'acide sulfureux a eu très peu d'influence sont : *Grasa* (Pietreosa) et *Grasa* (Cotnari) et celles sur lesquelles il a eu un peu plus d'influence sont : *Feteasca alba* et *Feteasca negrea* qui encore après neuf jours fermentaient un peu alors que les autres avaient déjà achevé la fermentation.

6° Marche de la fermentation.

Les variétés de vin blanc ont eu toutes une fermentation assez tranquille ; les variétés de vin rouge, au contraire, ont eu une fermentation assez tumultueuse.

Pendant la fermentation *Grasa* (Pietreosa) et *Francusea* conservaient le liquide assez clair ; et *Feteasca alba* et *Tamuiosa* (Odobesti) presque trouble, *Tamuiosa*

(Dragachani) très trouble et les autres s'approchaient plus du clair.

7° *Consommation du sucre.*

Le milieu que j'ai employé pour ces expériences a été du moût de raisin ramené par la saccharose à 250 grammes de sucre, exprimé en sucre réducteur. La fermentation a été faite dans des bouteilles de la même grandeur contenant 120 centimètres cubes de liquide. La consommation du sucre a été observée pendant dix jours, comme on peut le constater d'après le tableau suivant. Sur l'aptitude de la levure à détruire plus ou moins vite le glucose ou la lévulose, je ne peux rien dire, car mon milieu contenait beaucoup de sucre interverti.

Tableau VI

	Grasa Colnari	Grasa Pietroasa	Feteasca alba	Franceasca	Galbena	Tamuloasa Dragachani	Tamuloasa Odobesti	Cramposia	Negru moale	Negru vartos	Feteasca neagra
1 ^{er} jour.	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250
2 ^e —	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
3 ^e —	237	230	238	239	238	240	238	239	239	238	240
4 ^e —	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
5 ^e —	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
6 ^e —	200	205	210	200	205	208	203	210	212	208	200
7 ^e —	120	117	125	118	117	120	124	125	130	128	123
8 ^e —	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
9 ^e —	42	38	45	40	49	57	50	50	62	49	40
10 ^e —	8	7	8	7	15	20	18	24	21	19	9

8° *Bilan de la fermentation.*

Ces expériences ont été faites avec du moût de raisin auquel j'ai ajouté du saccharose; c'est le cas des moûts qui dans le tableau d'analyse sont indiqués comme ayant plus de 170 gr. Comme dans l'expérience précédente, ils ont été mis dans des bouteilles pareilles, mais contenant 150 centimètres cubes. La fermentation a eu lieu à l'étuve à 25 degrés et chaque essai a été fait en triple exemplaire.

a) *L'alcool* (1) a été dosé après distillation par la méthode du compte-gouttes Duclaux.

b) *L'acidité totale* a été dosée en prenant 10 centimètres cubes dilués à 100 avec l'eau distillée et titrés avec une solution de KOH N/10 me servant comme indicateur d'une solution alcoolique de phénolphtaléine.

c) *La glycérine*. — Ce dosage a été fait par la méthode de Laborde, qui est basée sur le principe suivant : la glycérine est extraite par un liquide éthéroalcoolique qui est ensuite décomposé en charbon sous l'influence de SO^4H^2 $[\text{C}^3\text{H}^8\text{O}^3 + \text{SO}^4\text{H}^2 = \text{C}^3 + \text{SO}^2 + 5\text{H}^2\text{O}]$.

Ce charbon calciné est séché, pesé et son poids multiplié par 2,56 (rapport du poids de la glycérine 92 et du charbon 36) qui nous donne le poids correspondant de la glycérine cherchée.

d) *Le sucre* a été dosé par la liqueur de Fehling et exprimé en sucre interverti.

1. Avant l'ensemencement j'ai vérifié si le liquide ne contenait pas d'alcool. Ainsi que Klocker l'a déjà montré, j'en ai trouvé quelques dixièmes de degré.

Tableau VII

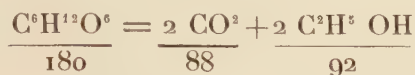
		Sucre initial gr.	Acidité initiale gr.	Alcool o/o initial cc.	Alcool o/o cc.	Acidité totale gr.	Acide volatile gr.	Glycérine gr.	Quantité de glycérine prod. sur o/o de sucre descomp.	Sucre gr.	Pouvoir alcooligène
1	Grasa (Cotnari)	215	8,20	0,4	12,98	9,00	0,37	9,40	4,5	..	0,60
2	Grasa (Pietroasa) ...	230	8,70	..	12,80	9,10	0,40	8,50	3,7	3,25	0,56
3	Feteasca alba	210	8,90	..	12,60	9,40	0,28	8,80	4,1	..	0,60
4	Francusea	230	8,80	..	12,61	9,30	0,38	8,30	3,7	6,00	0,56
5	Galbena (Odobesti)..	210	5,40	0,3	12,68	6,00	0,50	8,90	4,2	1,9	0,60
6	Tamuiosa (Odobesti).	180	7,80	..	9,80	8,40	0,60	6,70	3,7	1	0,57
7	Tamuiosa (Dragasa)	170	7,50	..	9,40	8,21	0,30	6,70	3,9	..	0,54
8	Cramposia	180	9	..	10	9,60	0,22	6,20	3,4	1	0,55
9	Negru moale	175	8,10	..	9	8,50	0,32	6,23	3,5	..	0,51
10	Negru vartos	175	7,10	..	9,20	8,20	0,40	6,05	3,4	..	0,52
11	Feteasca negru	190	7	..	11	6,80	0,40	7,80	4,1	2	0,57

e) Dans cet essai de fermentation, j'ai fait également l'observation de la marche de l'acidité volatile pour voir si elle se forme au commencement, au milieu ou à la fin de la fermentation. Comme ces expériences n'ont pu être tout à fait achevées, il m'est impossible d'en donner les chiffres, mais, d'une manière générale, je peux dire que mes levures forment la plus grande partie de l'acidité volatile vers la fin de la fermentation.

f) Le *pouvoir alcooligène*. — J'entends par cette expression le rapport entre l'alcool produit exprimé en centimètres cubes pour 100 de volume et la quantité de sucre, c'est-à-dire la quantité d'alcool exprimée en

centimètres cubes qu'un gramme de sucre interverti est capable de donner.

D'après la formule classique :



il revient que 100 grammes de sucre donnent 51 gr. 11 d'alcool ou il faudra 15 à 16 grammes de sucre pour faire 1 degré d'alcool, ou 1 gramme de sucre serait capable de fournir 0 cmc. 64 d'alcool. Mais, en pratique, d'après les travaux de Pasteur et de Wortmann, il faut compter que le minimum 6,5 o/o de sucre sert à la formation de la glycérine, acide succinique et des autres corps et que 100 grammes de sucre ne donnent que 48 gr. 6 à 47 gr. d'alcool ou, en moyenne 60 centimètres cubes, ce qui fait qu'il faudra en pratique 16 gr. 6 de sucre pour avoir 1 degré d'alcool ou 1 gramme de sucre est capable de donner 0 cmc. 607 d'alcool.

Ce pouvoir alcooligène de 0 cmc. 607 d'alcool ne peut être obtenu en vinification. On ne peut l'obtenir qu'avec des levures sélectionnées et dans des milieux stérilisés.

Mes levures ont un pouvoir alcooligène de 0,60 à 0,51. Les levures des régions froides et qui produisent d'habitude les meilleurs vins ont le pouvoir alcooligène le plus puissant.

Sur cette observation assez caractéristique, on peut se baser pour différencier les diverses espèces de levure, car le pouvoir alcooligène est une qualité de la levure ainsi que l'a déjà dit M. Ventre : « On peut admettre « que les différences observées dans les quantités

« d'alcool produites traduisent une activité biologique
« spéciale et absolument propre à une levure déter-
« minée. »

D'après les recherches de Lindner et Martinand, on peut admettre que les propriétés physiologiques sont intimement liées au protoplasme de la cellule et que la propriété de ce protoplasme ne change qu'au bout de plusieurs années de culture et à la condition que ce changement soit voulu par l'expérimentateur.

V. — CLASSIFICATION ET CONCLUSION

Suivant la classification des levures faites par Guillemond (qui est une classification de Hansen modifiée) les levures de vin, comme celles de brasserie font partie du troisième groupe. « Les levures dont la formation de l'asque n'est précédée d'aucun phénomène de sexualité et qui, dans les milieux liquides, végètent d'abord sous forme de dépôts et ne produisent que beaucoup plus tard un voile plus ou moins muqueux, sans interposition d'air, ou qui ne donnent jamais de voiles. Presque toutes les espèces donnent une fermentation. »

Ce groupe de *Saccharomyce* « a été divisé par Hansen d'après la nature du sucre que les levures font fermenter en six sous-groupes. Mes levures font partie du premier sous-groupe : » *Saccharomyces* qui font fermenter le saccharose, le maltose et la dextrose et n'agissent pas sur le lactose. »

En résumé, toutes mes levures bourgeonnent avec facilité, se déposent facilement au fond du liquide nutritif, produisent très tardivement le voile, secrètent de l'invertine et quelques-unes ont un très grand pouvoir alcoogène.

Comme aspect microscopique, les cellules peuvent paraître un peu différentes ; mais il prédomine toujours les formes elliptiques à grandes cellules. D'ailleurs sur ce caractère morphologique, on ne peut pas baser beaucoup de certitude, car Zopf, étudiant les formes de bactéries, a conclu : « Une seule et même espèce de bactérie peut se présenter sous des aspects très variés, « par exemple comme spirille, leptothrix, bacille, bactérie et coccus », et Jeorgensen dit : « Ces noms ne « distinguent très souvent que des formes de croissance « d'une espèce distincte et, en condition de développement différent peut apparaître le même microorganisme sous l'une ou l'autre de ces formes. » Chose d'ailleurs exprimée également par Duclaux p. 547.

Des autres caractères tels que le trouble de moût ou la rapidité de la fermentation, je ne puis tirer aucune conclusion pratique, car il me semble qu'ils sont loin d'avoir une valeur absolue, n'ayant de valeur que pour les conditions spéciales dans lesquelles les expériences ont été faites, car « il suffirait de changer la forme des « vases ou la température pour les modifier ; néanmoins, « ils ne sont pas sans utilité ; observés dans des conditions identiques, ils contribuent à la distinction des « espèces » (L. Boutroux).

La résistance à l'acidité totale et à l'acide sulfureux est suffisante pour les conditions qu'on pourrait rencontrer en pratique. La production de l'acide volatil étant un caractère biochimique différent pour chaque levure, comme M. Ventre l'a déjà montré, et mes levures produisant dans les mêmes conditions une quantité diffé-

rente d'acide volatil, il s'ensuit que ces levures ont une action physiologique différente l'une de l'autre. Comme le rapport entre l'acidité totale initiale et l'acidité totale après la fermentation n'est pas le même, il faut supposer que l'une attaque plus qu'une autre, soit l'acide tartrique, soit l'acide malique. La diminution de l'acidité totale peut être aussi attribuée à l'attaque de l'acide citrique, car il a été démontré aussi que, vis-à-vis de cet acide, toutes les levures ne se comportent pas pareillement. L'augmentation de l'acidité totale doit être attribuée aux acides volatils et à l'acide succinique qui est également un produit d'activité biologique spécial à chaque levure.

Comme le temps et le but poursuivi ne m'ont pas permis d'étudier cette question, je l'ai laissée pour une autre occasion. Il faudra maintenant tirer une conclusion pratique de la valeur de mes levures. Mais, avant de prendre cette responsabilité, je dois faire connaître la phrase suivante de M. Kayser : « Les levures sont des « êtres capricieux, et une bonne levure ne donnera pas « toujours de bonnes fermentations ; la composition du « moût (acidité, richesse saccharine) (nature et quantité), « la richesse azotée, la température ambiante sont autant « de facteurs qui jouent ici un très grand rôle qu'il « importe de bien connaître avant toute expérience pratique. »

Et encore quelle valeur puis-je donner aux sélections de mes levures quand ce « seront toujours les « dégustateurs qui auront le dernier mot à dire ? » « Et « quand la dégustation nous aura fourni des résultats,

« nous aurons plus de chance alors de comprendre, du
« moins en gros, pourquoi ils furent bons ou mauvais :
« les hypothèses, en tout cas, pourront à la fois mieux
« s'établir et se justifier » (E. Kayser et Barba).

Car, on ne pourrait rien affirmer de ces levures dans le domaine pratique avant de les avoir placées, maintenant qu'elles sont sélectionnées, en Roumanie, dans les milieux où elles sont appelées à travailler et dans les conditions ambiantes au sein desquelles elles se trouveront toujours.

Paris, le 12 novembre 1915.

Ce travail a été exécuté dans les laboratoires de fermentation de l'Institut Pasteur, sous la haute direction de M. Auguste Fernbach.

BIBLIOGRAPHIE

1. *Alwood (W.)* 1908. — The fermenting power of pure yeasts and some associatid fungi.
2. *Alwood (W.)* 1909. — Notes on the use of pure yeasts in Wine Making.
3. *Amthor (C.)* 1888. — Studien über reine Hefen (Zeitschrift für Physiologische Chemie, t. XII).
4. *Andrieu (P.)* 1911. — Vinification de la vendange par sulfitage et par levurage.
5. *Bertrand (G.)* et *Thomas (P.)* 1913. — Guide pour les manipulations de chimie biologique.
6. *Besson (Alb.)* 1911. — Technique microbiologique, Paris.
7. *Blarez.* 1908. — Vins et spiritueux ; analyses et falsifications.
8. *Boutroux.* 1883. — Sur l'habitat et la conservation des levures spontanées (Bull. de la Soc. Linné de Normandie, 3^e série, t. VII).
8. *Brefeld (Oscar).* 1883. — Botanische Untersuchungen über Hefepilze ; Fortsetzung der Schimmelpilze Untersuchungen aus dem Gesamtgebi et der Mykologie, Leipzig.
9. *Brefeld Oscar.* 1872. — Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze. Leipzig.
10. *Cagniard-Latour.* 1837 et 1838. — Mémoire sur la fermentation vineuse (C. R. Ac. Sc., t. IV et Ann. de Chimie et de Physique, t. LXIII).
11. *Cantemirii (D.)* 1716. — Descriptia Moldaviae, publié par l'Académie roumaine, 1872, t. I, p. 27.
12. *Chopin et Ubicini (A.)* 1856. — Provinces danubiennes et roumaines. Paris, t. II, 6.

13. *Dejeanne (A.)* 1913. — Chaleur et microbes des industries de fermentation (Ann. des Sciences agronom. franç. et étrang., 4^e série, 2^e année, t. II).
14. *Delbrück (M.)* 1895. — Die natürliche Reinzucht in der Praxis (Vortrag Wochenschr. für Brauerei, t. XII).
15. *Delbrück (M.)* 1914. — Hefe Gärung und Fäulnis. Berlin.
16. *Desmazières (J.-O.)* 1827. — Recherches microscopiques et physiologiques sur le genre *Mycoderma* (Ann. des Sc. naturelles, t. X, 42).
17. *Duclaux (E.)* 1865 et 1866. — Sur la production des acides volatils pendant la fermentation alcoolique (Ann. de l'Ecole norm. sup.).
18. *Dubourg.* 1897. — Étude des levures de vin (R. V.).
19. *Duclaux (E.)* 1889. — Note sur la formation des spores dans la levure (Ann. Inst. Past.).
20. *Duclaux (E.)* 1892. — Sur les fermentations de sucres divers (Ann. Inst. Past.).
21. *Duclaux (E.)* 1896. — Le Pouvoir ferment et l'activité d'une levure (Ann. Inst. Past., t. X).
22. *Duclaux (E.)* 1900. — Traité de microbiologie.
23. *Effront (J.)* 1891. — Étude sur les levures (Moniteur scientifique).
24. *Ehrenberg (C. J.)* 1821. — Epistola de Mycetogenesi (Nova Acta Physico-Medica. Academiæ Cæsareæ Leopoldina Carolinæ (Natura curiosorum), t. X p. 100).
25. *Fernbach (Aug.)* 1910. — L'Emploi des levures sélectionnées en vinification. (Rev. Vit.).
26. *Fernbach (Aug.)* 1913. — L'augmentation d'acidité produite par la levure au cours de la fermentation alcoolique (Ann. de brasserie).
27. *Gayon (U.)* 1911. — Sur l'emploi des levures sélectionnées dans la fermentation des moûts de raisin (Rev. Vit.).

28. *Gayon (U.) et Laborde (J.)* 1912. -- Vins ordinaires, vins mousseux, vins liquoreux et vins de liqueur.
28. *Gorodkowa (A.)* 1908. — Ueber das Verfahren rasch die Sporen von Hefepilzen zu gewinnen (Bull. Jardin imp. de bot. à Pétrograd, t. VIII).
29. *Guilliermond (A.)* 1912. — Les Levures. Paris.
30. *Heinrich (Fr.)* 1913. — *Saccharomyces anamensis*, die Hefe des neueren Amyloverfahrens, mit einer Einleitung über das Amyloverfahren (Geisenheim).
31. *Hepites (St.)* 1889. — La Météorologie en Roumanie (Communication au Congrès météorologique international. Paris).
32. *Holm (Chr.)*. — Sur les méthodes de culture pure et spécialement sur la culture sur plaques de Koch, et la limite des erreurs de cette méthode (C. R. de Meddelelser fra Carlsberg Lab., t. III, liv. I).
33. *Holm et Paulsen.* 1886. — Jusqu'à quelle limite peut-on, par la méthode de M. Hansen, constater une infection de « levure sauvage » dans une masse de levure basse de *Saccharomyces cerevisiæ*? (C. R. de Meddelelser fra Carlsberg Lab., t. II, liv. IV).
34. *Holm et Paulsen.* 1888. — Idem. (Deuxième communication, t. II, liv. V).
35. *Jacquemin (G.)* 1888. — Les *Saccharomyces* ellipsoïdeus et leurs applications industrielles (C. R. Ac. Sc.).
36. *Jacquemin (G.)* 1894. — Emploi rationnel des levures pures.
37. *Jacquemin (G.)* 1890. — Bouquet des boissons fermentées (C. R. Ac. Sc., t. CX).
38. *Joergensen (A.)* 1891. — Les Méthodes de Pasteur et de Hansen pour obtenir des cultures pures de levure. Une réponse à M. Velten (Gazette du brasseur, n° 215. Bruxelles).
39. *Joergensen (A.)* 1899. — Les Microorganismes de la fermentation. Paris.

40. *Jullien (A.)* 1839. — Topographie de tous les vignobles connus (Provinces continentales de la Turquie d'Europe, Paris).
41. *Kayser (E.)* et *Barba (G.)* 1897. — Contribution à l'étude des levures de vin (Rev. Vit.) (22).
42. *Kayser (E.)* 1892-1896. — Levures sélectionnées en vinification (Bull. du Ministère de l'Agriculture).
43. *Kayser (E.)* 1896. — Les Levures. Paris.
44. *Kayser (E.)* 1896. — Levures de vin (Ann. Inst. Past., t. X).
45. *Kayser (E.)* et *Demolon (A.)* 1907. — Contribution à l'étude des produits volatils dans la fermentation alcoolique. Paris. Idem, deuxième mémoire, 1909.
46. *Klöcker (Alb.)* 1906. — Die Gärungsorganismen in der Theorie und Praxis.
47. *Klöcker (Alb.)* 1911. — Gesammelte theoretische Abhandlungen über Gärungsorganismen, von *Emil Chr. Hansen*. Iéna.
48. *Koch (A.)* 1890-1893. — Jahresberichte über Gärungsorganismen.
49. *Kützing* 1837. — Untersuchungen über die Hefe und Essigmutter (Journal für praktische Chemie, t. II).
50. *Langeron (M.)* 1913. — Précis de microscopie.
51. *Lindner (P.)* 1909. — Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben 5. Aufl. (230).
52. *Lindner (P.)* 1909. — Le même (275).
53. *Lindner (P.)* 1893. — Wachstum der Hefen auf festen Nährböden (Wochenschr. f. Brauerei).
54. *Lindner (P.)* 1888. — Ueber einige Gärversuche mit verschiedenen Hefen (Wochenschr. f. Brauerei).
55. *Lister (J.)* 1878. — On the lactic fermentation, and its bearings on pathology (Transactions of the Pathological Society of London, t. XXIX, p. 425).
56. *Martinand.* 1895. — Manuel de vinification. Paris.

57. *Martinand*. 1909. — La levure cultivée dans la vinification de la vendange (R. V.).
58. *Martinand*. 1903. — Nouveaux procédés de vinification en rouge par le sulfitage et le levurage de la vendange (R. V.).
59. *Martinand*. 1906. — Observations sur la vinification en rouge de la vendange de 1905 à l'aide des levures sélectionnées (R. V.).
60. *Martinand*. 1912. — Qualités que doivent présenter les levures et leur emploi en vinification (R. V.).
61. *Marx (L.)* 1888. — Les Levures des vins (Moniteur scientifique du D^r. Quesneville).
62. *Musso (L.)* 1913. — Contribution à l'étude des levures algériennes. Thèse doct. ès Sciences, Paris.
63. *Nicoleanu (G.)* 1900. — Introduction à l'ampelographie roumaine.
64. *Nătescu (M.)* 1915. — Impresii de prin podgorii (Revista de Viticultura, n^{os} 49-54).
65. *Oppenheimer (C.)* 1903. — Die Fermente. Leipzig.
66. *Pasteur (L.)* 1858. — Mémoire sur la fermentation appelée lactique (Ann. de Chimie et de Physique, t. LII).
67. *Pasteur (L.)* 1860. — Mémoire sur la fermentation alcoolique (Ann. de Chimie et de Physique, t. LVIII).
68. *Pasteur (L.)* 1876. — Études sur la bière.
69. *Pichi (P.)* et *Marescalchi*. — Sulla fermentazione del mosto di uva con fermenti selezionati.
Nota II. De Estratto degli annali delle Reg. Scuola di Viti, e di Enologia in Conegliano. Ser. III Ann. I, Fas. III, 1892.
70. *Regnard (P.)* 1874. — Influence des divers agents phys. sur la fermentation alcoolique (Ann. de Chimie et de Physique).
71. *Rietsch* 1890. — De la possibilité de communiquer divers bouquets aux vins par l'addition dans la

- cuve à fermentation de levures cultivées (Bull. de la Soc. d'agriculture, février).
72. *Rommier (A.)* 1889. — Sur la possibilité de communiquer le bouquet d'un vin de qualité à un vin commun en changeant la levure qui le fait fermenter (Bull. de la Soc. chimique, série III, t. II).
73. *Roos (L.)* 1892. — La Vinification et les levures cultivées.
74. *Rosenstiehl (A.)* 1899. — Sur les vins obtenus par le chauffage préalable de la vendange (C. R. de l'Ac. des Sc., avril).
75. *Rosenstiehl (A.)* 1902. — Sur le bouquet des vins obtenus par la fermentation des moûts de raisin stériles (C. R. de l'Ac. des Sc., juin).
76. *Rosenstiehl (A.)* 1908. — Rôle des levures et du cépage dans la formation du bouquet des vins (C. R. de l'Ac. des Sc.).
77. *Rosenstiehl* 1911. — L'Emploi des levures sélectionnées en vinification. (R. V.).
78. *Rosenstiehl* 1911. — Les Progrès accomplis par la pratique du levurage des vendanges. (R. V.).
79. *Sumuleanu (C.)* 1911. — Studiul vinurilor din Romania.
80. *Tyndall (John)* 1882. — Les Microbes.
81. *Ventre (J.)* 1914. — Influence de différentes espèces de saccharomyces sur milieux artificiels et naturels (Ann. de l'Institut Pasteur, t. XXVIII).
82. *Will (H.)* 1909. — Biologische Untersuchungen und Begutachtung von Bierwürze, Bierhefe und Brauwasser zur Betriebskontrolle, sowie zur Hefenreinzucht.
83. *Wortmann (J.)* 1892-1894. — Untersuchungen über reiner Hefen. Landwirtschaftliche Jahrbücher.
84. *Wortmann (J.)*. — Anwendung und Wirkung reiner Hefen in der Weinbereitung.

SECONDE THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Physique. Cryoscopie du glucose etc.

Vu et approuvé :

Paris, le 4 décembre 1915

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

P. APPELL

Vu et permis d'imprimer :

Paris, le 4 décembre 1915

Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris

L. LIARD.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION.....	7
<i>Les vignobles en Roumanie</i>	7
Situation géographique. Histoire. Importance économique.....	7
I. — HISTOIRE DE LA SÉLECTION, SA VALEUR ET SON IMPORTANCE AU POINT DE VUE PRATIQUE.....	11
A. — Histoire.....	11
B. — La valeur du sélectionnement des levures au point de vue pratique.....	16
II. — PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS ET TECHNIQUE DE L'ISOLEMENT.....	21
A. — Prélèvement.....	21
B. — Technique de l'isolement.....	24
III. — ÉTUDE MORPHOLOGIQUE.....	27
1° Aspect du dépôt de levure.....	27
2° Dimensions et forme des cellules.....	27
3° Formation des spores.....	28
4° Formation du voile.....	30
5° Cultures en stries.....	30
6° Cultures en piquûres.....	30
7° Cultures en chambre humide.....	31
8° Colonies géantes.....	32
IV. — ÉTUDE PHYSIOLOGIQUE.....	35
1° Nature des sucres susceptibles d'être fermentés.....	35
2° Liquéfaction de la gélatine.....	37

3° Influence de l'acidité sur la marche de la fermentation	37
4° Influence de l'alcalinité sur la marche de la fermentation	39
5° Résistance de la levure à l'acide sulfureux	40
6° Marche de la fermentation	41
7° Consommation du sucre	42
8° Bilan de la fermentation	43
a) L'alcool	43
b) L'acidité totale	43
c) La glycérine	43
d) Le sucre	43
e) Le pouvoir alcooligène	44
V. — CLASSIFICATION ET CONCLUSION	47
BIBLIOGRAPHIE	51

PLANCHES

Fig. 1. — Trois flacons différents pour les colonies géantes.

Fig. 2. — Le nouveau flacon détaché.

Colonies géantes

Fig. 3. — Francusea.

Fig. 4. — Grasa Pietroasa.

Fig. 5. — Tamuioasa Odobesti.

Fig. 6. — Tamuioasa Dragachani.

Fig. 7. — Levure sauvage.

Fig. 8. — Levure sauvage,

Fig. 9. — Grasa Cotnari.

Fig. 10. — Negru vartos.

Fig. 11. — Feteasca neagra.

Fig. 12. — Negru moale.

